

Aus der Urologischen Klinik der Johannes
Gutenberg-Universität Mainz

Das Konzept der Bioprothese an Hand des
Ureterersatzes:
Humane Nabelschnurtransplantation im
Tierversuch unter Berücksichtigung
immunologischer Gesichtspunkte

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Würde des Doktors der Zahnmedizin
der Johannes-Gutenberg-Universität in Mainz

Den Medizinischen Fachbereichen vorgelegt
von Rainer H. J. Groß
aus Ludwigshafen

Mainz 1979



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41552610_0036

Aus der Urologischen Klinik der Johannes
Gutenberg-Universität Mainz

Das Konzept der Bioprothese an Hand des
Ureterersatzes:

Humane Nabelschnurtransplantation im
Tierversuch unter Berücksichtigung
immunologischer Gesichtspunkte



Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Würde des Doktors der Zahnmedizin
der Johannes-Gutenberg-Universität in Mainz

Den Medizinischen Fachbereichen vorgelegt
von Rainer H. J. Groß
aus Ludwigshafen

Mainz 1979



Fachbereichsdekan: Professor Dr. Altwein

1. Gutachter: Professor Dr. Hohenfellner

2. Gutachter: Professor Dr. Klippel

Meinen Eltern gewidmet

Inhaltsverzeichnis

Seite

1.	Das Konzept der Bioprothese	1
1.1	Theoretische Bemerkungen	1
1.2	Das Konzept der Bioprothese in der Gefäßchirurgie	4
1.2.1	Einleitung	4
1.2.2	Grundlagen	4
1.2.3	Autologe Venentransplantate	9
1.2.4	Nicht autologe Venentransplantate	11
1.2.5	Humane Umbilikalgefäße in der Gefäßchirurgie	13
1.2.5.1	Anwendung	13
1.2.5.2	Methodik	13
1.2.5.3	Ergebnisse	14
1.2.5.4	Hämokompatibilität	15
2.	Die Nabelschnur	17
2.1	Entwicklungsgeschichte	17
2.2	Makroskopische Anatomie	20
2.3	Mikroskopische Anatomie	21
2.4	Submikroskopische Anatomie	24
2.4.1	- des Epithels	24
2.4.2	- des Endothels	24
2.4.3	- der fibroblastoiden Zellen	25
2.5	Physiologie	26
2.6	Biochemie der Venenwand	27

3.	Experimenteller Teil	29
3.1	Operativer Teil:	
	Humane Umbilikalgefäße als Ureterersatz	29
3.1.1	Vorbereitung der Nabelschnur	29
3.1.2	Operationsvorbereitungen	30
3.1.3	Operationsdurchführung	30
3.1.4	Nachsorge	33
3.1.5	Ergebnisse: Kaninchen	35
3.1.6	Ergebnisse: Hunde	41
3.1.7	Mikroskopische Befunde	45
3.2	Immunologischer Teil:	
	Untersuchung über die Antigenität der Nabelschnur im Mäusesystem BALB/c und CBA/J	48
3.2.1	Fragestellung	48
3.2.2	Grundlagen	48
3.2.3	Testprinzip	49
3.2.4	Methodik	53
3.2.5	Ergebnisse	59
4.	Diskussion	64
4.1	Das Konzept der Bioprothese an Hand des Ureterersatzes	64
4.2	Immunologie	69
5.	Zusammenfassung	74
6.	Literaturverzeichnis	75
7.	Lebenslauf	83

1. Das Konzept der Bioprothese

1.1 Theoretische Bemerkungen

Unter einer Bioprothese versteht man ein biologisches Ersatzstück für einen verlorengegangenen oder funktionsuntüchtigen Körperteil.

An Hand von Herzklappen beschreibt Carpentier (9) die wesentlichen Merkmale und die Herstellung einer Bioprothese.

Ausgehend von der Prämisse, daß die Überlebenszeit eines Transplantates das Ergebnis des Wettbewerbes zwischen Destruktion und Regeneration der Fibroblasten ist, gibt es zwei Möglichkeiten, die Transplantatbeständigkeit zu beeinflussen, nämlich durch:

1. Erhöhung der Gewebsstabilität
2. Verbesserung der Gewebsregeneration des Empfängers.

Nach Carpentier's Ansicht ist der ersteren Methode deutlich mehr Erfolg beschieden.

Die wesentlichen Gefahren, die einem Transplantat drohen, sowie Methoden der Vorbeugung gibt folgendes Schema wieder:

Erkannte Gefahr	Konsequenz
1. Entzündungs- und Immunreaktionen	Elimination und Denaturierung antigenen Determinanten
2. Späte Kollagen-denaturierung (Biodegradation)	Cross-linking (Molekülvernetzung)

Es zeigte sich, daß unter den makromolekularen Fraktionen des Transplantates sich die löslichen Proteine, Mukopolysaccharide und Glykoproteine wesentlich stärker antigen verhielten als Kollagen und Elastin.

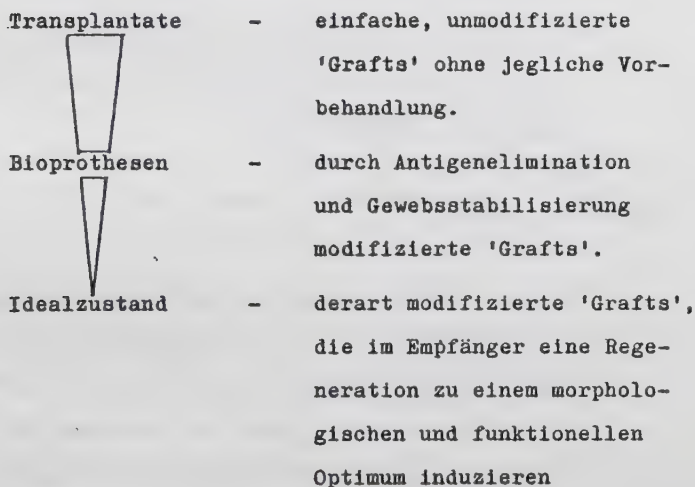
Die Methoden der Elimination bzw. Denaturierung antigenen Determinanten sowie der Gewebsstabilisierung gehen aus Tabelle 1 hervor:

Elimination	durch	Methode
Lösliche Proteine	→	Waschen in Hank's Lösung
Mukopolysaccharide Glykoproteine	➤	Denaturierung durch Oxidation
Gewebsstabilisierung	→	Molekülvernetzung durch Dialdehyd

Tab. 1: Methoden zur Verbesserung der Transplantatbeständigkeit

Diese Methoden sollen es erlauben, ein nicht antigenes, stabiles Transplantatgewebe zu erhalten. Mit derart vorbehandelten Heterotransplantaten sind von 40 implantierten Herzklappen nach 2 Jahren noch 80 % funktionstüchtig (9).

Vergleicht man die derart gewonnenen Bioprothesen mit den herkömmlichen Transplantationsmethoden und dem angestrebten Idealzustand, so ergibt sich folgendes Schema:



1.2 Das Konzept der Bioprothese in der Gefäßchirurgie

1.2.1 Einleitung

Auf der Suche nach einem geeigneten Arterienerersatz hat es sich gezeigt, daß weder Kunststoffprothesen noch homolog transplantierte Arterien mit oder ohne Konservierung geeignet sind, da sie aus hämodynamischen oder immunologischen Gründen oder infolge degenerativer Wandveränderungen thrombosieren. Auch andere als Arterienerersatz verwendete Implantate wie beispielsweise Faszienstreifen, Corium, Dura, Darm etc. haben sich als ungeeignet erwiesen (78).

1.2.2 Grundlagen

An Hand von Sexchromatin-Studien konnten Schwartz et al. (59) an transplantierten Venen zeigen, daß nach 119 Tagen noch gen-identisches Gewebe vorlag. Hierbei wurden weder Hauttransplantate beschleunigt abgestoßen, noch wurde ein Absinken des Komplement-Titers registriert, was wiederum zu der Schlußfolgerung führte, daß homologe Venentransplantate nur schwach antigen wirken.

Dies steht in Einklang mit den Ergebnissen von Vickery et al. (68), die fanden, daß die Immunantwort gegen Gefäßgewebe 'relativ insignifikant' sei.

Der Antigenreiz kann durch Gefrieren noch weiter vermindert werden (66), wie allgemein die Auffassung besteht, daß Gefriertrocknen und Tiefgefrieren mit nachfolgendem Wiederauftauen in der Lage ist, die Antigenität von Heterotransplantaten signifikant zu reduzieren (26).

Sollen homologe Venentransplantate in flüssigem Stickstoff aufbewahrt werden, so ist nach Weber et al. (74) die Verwendung von Dimethyl-Sulfoxid (DMSO) angezeigt; diese Substanz hat die Eigenschaft eines 'Cryoprotectant'. Die Autoren fanden bei Ihren elektronenoptischen Untersuchungen Rupturen der Endotheloberfläche, die stellenweise Kollagen freilegten, wenn kein DMSO beim Tiefgefrieren verwendet worden war, hingegen keine Unterschiede zwischen frischen und DMSO-präservierten Venen.

Die Vorgänge bei der Einheilung transplanterter Venen wurden besonders von Wyatt et al. (76) mittels der Tusche-Injektionstechnik untersucht. Nach einer Transplantationszeit von 2 Tagen ließ sich keine Tusche in die Vasa vasorum injizieren;

es fanden sich mit Erythrozyten gefüllte, dilatier- te Gefäße. Nach 3 Tagen Transplantationszeit war die Tusche jedoch wieder in den Vasa vasorum nach- weisbar. Im Verlaufe von 2 Wochen bis zu 6 Monaten etablierte sich ein dichtes Netzwerk von Kapillaren in der Adventitia und der äußeren Media. Bemerkens- wert ist, daß die transplantierte Vene die ihr eigene Gefäßarchitektur beibehielt.

Histologische und histochemische Erkenntnisse bei der Transplantateinheilung wurden von McCabe und Cunningham (10) an Greyhounds gewonnen. Die schon nach 2 Tagen beobachtete Wandverdickung wird pri- mär durch Veränderungen in der Media, zu einem geringeren Anteil auch durch Veränderungen in der Adventitia verursacht.

Zusätzlich beschreiben Szilagyi et al. (65) Fibrin- ablagerungen auf die intimale Oberfläche, welche ebenfalls zur Wandverdickung beitragen sollen. Die Ergebnisse der Untersuchungen von McCabe und Cunningham sind in Tabelle 2 zusammengefaßt.

Die beobachteten Veränderungen im Transplantat werden dem operativen Trauma, der temporären Unterbrechung der Blutversorgung sowie dem für die Vene ungewöhnlichen arteriellen Blutdruck zu- geschrieben.

Die Abnahme der Muskelzellzahl wird auch von Szilagyi (65) beobachtet; sie steht nach seiner Meinung in Korrelation zur Länge des Transplantates: je länger das Transplantat, desto stärker die Abnahme der Muskelzellen.

Histochemisch konnte eine vorübergehende Erhöhung der Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase-Aktivität gefunden werden, die nach Meinung der Autoren als Ausdruck der Entzündung und der hiermit verbundenen Reparationsmechanismen zu werten ist.

Humane Venentransplantate unterliegen ähnlichen Veränderungen, allerdings mit Betonung der Intima-Proliferation (10).

Es sei jedoch darauf hingewiesen, daß das Vorhandensein einer Entzündung nicht notwendigerweise die Antigenität eines Transplantates bedeutet (26).

Tab. 2: Histologische Veränderungen des Venentransplantates

Struktur	Beobachtungszeitraum	Histologischer Befund
Intima	2 Tage - 1 Woche	Polymorphkernige Leukozyten zwischen Intima-Zellen
	4 - 12 Wochen	zusätzlich kleine, begrenzte Zell-Plaques zwischen dem Gefäßlumen und der <i>Elastica interna</i>
	12 - 32 Wochen	keine weiteren Veränderungen
Media	2 Tage - 1 Woche	akutes entzündliches Exsudat mit dichten Ansammlungen polymorphkerniger Leukozyten, die zwischen Muskelzellen liegen
	2 - 4 Wochen	die akuten Entzündungszellen verschwinden, es herrschen Fibrozyten-ähnliche Zellen vor; vermehrt Grundsubstanz und Kollagen
	4 - 32 Wochen	weitere Vermehrung von Kollagen und Grundsubstanz
Adventitia	2 Tage - 2 Wochen	Vorhandensein von Entzündungszellen
	4 - 12 Wochen	Kollagen und Fibrozyten sind vorhanden
	2 Tage	normale Anzahl von Muskelzellen, die durch das entzündliche Exsudat auseinandergedrängt sind
Muskelzellen	1 Woche	die Zellen erscheinen breiter und kürzer
	4 - 32 Wochen	Abnahme der Zellzahl

1.2.3 Autologe Venentransplantate

Die autologe Vene stellt zur Zeit für die Überbrückung vaskulärer Defekte das Mittel der Wahl dar; gleichwohl ist ihre Verwendung mit Problemen und Risiken behaftet.

So ergaben Nachuntersuchungen an über 300 Patienten mit femoro-poplitealem Bypass eine Offenbleib-Rate (patency-rate) von 63,8 % nach 5 Jahren (65). In angiographischen Untersuchungen von 260 noch offenen Gefäßen wurden folgende Veränderungen festgestellt:

Intima-Verdickung	8,0 %
Atherosklerose	7,7 %
Klappen-Fibrosierung	5,7 %
Fibröse Stenosierungen	4,2 %
Naht-Stenosen	3,0 %
Aneurysmatische Veränderungen	3,8 %
Total	32,7 %

Tab. 3: Angiographisch nachweisbare Veränderungen nach autologer Venentransplantation (nach 65).

Die Progression der Veränderungen ist am ausgeprägtesten bei der Atherosklerose und der fibrösen Stenosierung. Letztere wird bemerkenswerterweise in Zusammenhang mit den bei der Operation verwendeten Halteklemmen gebracht (65).

Die gefundenen Ergebnisse stehen in etwa in Einklang mit den Ergebnissen einer Nachuntersuchung von Seybold-Epting und Gall (61), die bei 294 femoro-poplitealen Venentransplantationen über 32 Frühverschlüsse und 43 Spätverschlüsse berichten. Als wesentliche Ursachen werden bei den Frühverschlüssen falsche Indikation und technische Fehler, bei den Spätverschlüssen Progression der Atherosklerose und Reststenosen angesehen.

Sonstige Ursachen, die zur Insuffizienz der Transplantate führen, wie beispielsweise Infektion, narbige Kompression oder etwa eine spontane Nekrose (27) sind offenbar selten.

1.2.4 Nicht autologe Venentransplantate

Bei manchen Patienten sind autologe Venen zur Überbrückung arteriell-vaskulärer Defekte wegen hohen Bifurcationen, zu geringer Größe, Varikosis oder vorausgegangenen Phlebitiden nicht verwendbar.

Aus diesen Gründen wurde die Verwendung arterieller Autotransplantate (77), die Aufbewahrung homologer Venentransplantate in flüssigem Stickstoff unter Verwendung von DMSO (74), die Verwendung xenologer, modifizierter Venentransplantate (66) sowie die Verwendung lyophilisierter Venen (7) beschrieben.

Tice et al. transplantierten 1972 humane Venensegmente als Xenotransplantate in Hunde mit einer Offenbleib-Rate von 100 % nach 2 Jahren. Bemerkenswert ist, daß keine Anzeichen einer Abstoßungsreaktion beobachtet wurden; histologische Untersuchungen zeigten initiale Fibrinablagerungen und insbesondere die Bildung einer neuen Intima (Neointima), die progredient die transplantierten Segmente bedeckte. Schließlich wurden Media und Adventitia im Laufe von 6 - 9 Monaten überwiegend durch Fibroblasten und elastisches Gewebe ersetzt (66).

Dies ähnelt den Ergebnissen von Breiteneker et al., welche 1972 nach Transplantation homologer lyophilisierter Venensegmente an Hunden eine immunologische Reaktivität nachzuweisen nicht imstande waren und ebenso wie Tice et al. die Bildung eines bindegewebigen Schlauches, der von einem 'Neendothel' ausgekleidet wird, beschrieben (7).

1.2.5 Humane Umbilikalvenen in der Gefäßchirurgie

1.2.5.1 Anwendung

Die Verwendung von Umbilikalvenen zur Überbrückung vaskulärer Defekte geht auf Dardik und Dardik 1973 (14) zurück.

Im Verlaufe zahlreicher experimenteller und klinischer Untersuchungen wurde die humane modifizierte Nabelschnurvene mit gutem Erfolg als Aorten-Interponat (14), Aorten-Bypass und Carotiden-Interponat (17), als axillobrachialer und femoraler Shunt (20) sowie als femoro-poplitealer Bypass (18) zunächst im Tierversuch, in jüngster Zeit aber auch am Menschen verwendet. Die klinische Anwendung beschränkte sich auf Patienten, bei denen durch frühere Operationen entweder keine autologen Venen mehr vorhanden oder diese zum Ersatz unbrauchbar waren.

1.2.5.2 Methode

Die bisher erfolgreichste Methode der Autoren (14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 51) kann wie folgt zusammengefaßt werden:

- 1) Das zu transplantierende Venensegment wurde in einer 2 %igen Glutaraldehyd-Lösung vorbehandelt. Hierdurch sollte zum einen eine Kreuzvernetzung linearer Proteine erreicht, zum anderen die für die Histokompatibilität verantwortlichen Strukturen gebunden werden. Hierdurch wurde zusätzlich eine (erwünschte) feste Konsistenz des Transplantates erreicht, allerdings auf Kosten der Flexibilität und Elastizität des Gewebes. Glutaraldehyd hat sich als überlegen gegenüber Dialdehyd-Stärke-Lösung erwiesen, da es als kleineres Molekül in kleinere Räume eindringt und so mehr 'cross-links' pro Flächeneinheit bewirkt (3).
- 2) Zur Verstärkung der Umbilikalvene gegen den arteriellen Blutdruck wurde die Vene mit einem Polyester-Netz umgeben, womit gleichzeitig Aneurysmen vorgebeut werden sollte (21).
- 3) Die weitere Lagerung bis zum Zeitpunkt der Implantation erfolgte in 50 %igem Äthylalkohol.

1.2.5.3 Ergebnisse

Histologisch war nach etwa 14 Tagen eine die Umbilikalvene umgebende Bindegewebsreaktion festzustellen, die eine äußere Kapsel bildete.

Leichte Entzündungen konnten in der Region des Nahtmaterials beobachtet werden, wohingegen die Vene selbst nur insignifikant alteriert wurde. Bei Implantaten, die längere Zeit im Versuchstier verblieben, ließ sich eine chronisch-entzündliche Gewebsreaktion feststellen, die in allen Fällen das Polyester-Netz umgab und durch Makrophagen und einige Fremdkörperriesenzellen repräsentiert war. Die Muskelschicht war derart durch Bindegewebe ersetzt worden, daß die Autoren von einem 'Muskulokollagenen Conduit' sprachen (15).

Baier et al. (3) weisen in ihren elektronenoptischen Untersuchungen darauf hin, daß selbst nach einer Beobachtungszeit von 3 Monaten keine Anzeichen einer Re-endothelisierung der zuvor Glutaraldehyd-behandelten Nabelschnurvenen eingetreten war.

Die zum Teil aufgetretenen Thrombosierungen werden in Zusammenhang mit nicht völlig ausgewaschenen Glutaraldehyd-Oligomeren gebracht (18).

1.2.5.4 Hämkompatibilität

Gloster berichtet 1976 (30), daß die Basalmembran der menschlichen Umbilikalvene im Vergleich zu kollagenem Gewebe eine nur schwach Thrombozyten-

reaktive Oberfläche darstellt.

Das Endothel der Nabelschnurvene wurde durch Gefrieren und Auftauen entfernt, so daß die Basalmembran, eine kontinuierliche, retikulierte Struktur, an die Oberfläche gelangte.

In antikoaguliertem (heparinisiertem) menschlichen Vollblut zeigten so behandelte Venenteile eine nur einschichtige Bedeckung mit Thrombozyten, welche ihre Form und Granula beibehielten, während Kontrollvenenteile mit kollagener Oberfläche große Aggregationen degranulierter Thrombozyten aufwiesen (elektronenoptische Befunde).

Baier et al. (3) weisen auf die Bedeutung der kritischen Oberflächenspannung und deren Bedeutung für die Hämokompatibilität hin. Der biokompatible Bereich der Oberflächenspannung liegt nach den Angaben der Autoren zwischen 20 und 30 dyn/cm. Der für die Autoren überraschende Befund, daß die Basalmembran der menschlichen Umbilikalvene bezüglich der Oberflächenspannung ebenfalls im biokompatiblen Bereich liegt, steht in Einklang mit den von Gloster (30) präsentierten Ergebnissen.

2. Die Nabelschnur (Funiculus umbilicalis)

2.1 Entwicklungsgeschichte

Der menschliche Keimling ist anfangs durch den am kaudalen Ende gelegenen Haftstiel mit dem Chorion verbunden. Durch das Längenwachstum des Körpers und die Ausbildung der Rumpfknospe wird der Embryonalkörper um den Haftstiel herumgeschwenkt. Dieser wird dadurch an die Bauchseite des Körpers verlagert und wird zum Bauchstiel, in welchem der Allantoisgang und die Allantoisgefäße (Vasa umbilicalia) verlaufen. Der Bauchstiel nähert sich dem Dottergang mit seinen Gefäßen.

Da die Amnionhöhle den Keim von allen Seiten in Richtung auf den Bauchstiel und den Dottergang umwächst, werden beide Gebilde in einem von Amnion umhüllten Nabelstrang zusammengedrängt, der alle Verbindungen vom Embryo zum Chorion (also der Plazenta) enthält (53).

Der Dottergang, der nach Verschluß des 'Darmnabels' seine Verbindung mit dem Darmrohr verliert, bleibt noch eine Zeitlang als ein Epithelschlauch bestehen, zerfällt dann aber in einzelne solide Epithelperlen und verschwindet, nachdem diese Reste abgebaut sind, spurlos.

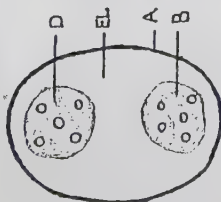
Hand in Hand damit geht eine Rückbildung der Dottersackgefäße, doch können Reste von ihnen auch noch in dem reifen Nabelstrang angetroffen werden; ausnahmsweise können die Dottersackgefäße sogar erhalten bleiben und die Rolle der Allantoisgefäße übernehmen.

Die Allantois bildet sich ebenfalls zurück, indem sie schon Ende des 2. Monats zu einem soliden Strang wird, der sich bald in einzelne Stücke auflöst; bis zum 4. Monat können aber noch Bläschen oder Schlauchstücke, später nur solide Epithelkugeln gefunden werden. Vereinzelt finden sich auch solche Reste in dem reifen Nabelstrang.

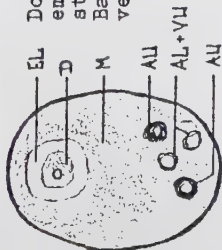
Nachdem von den vier Allantoisgefäßen die rechte Nabelvene sich zurückbildet, bleiben als funktionierende Inhaltsgebilde der Nabelschnur nur die beiden Aa. umbilicales und die linke Vena umbilicalis übrig (13).

Die Entwicklung der Nabelschnur wird schematisch in Abbildung 1 wiedergegeben.

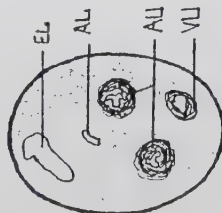
Abb. 1: Querschnitte durch den Nabelstrang in verschiedenen Entwicklungsstufen
Nach Glara (13)



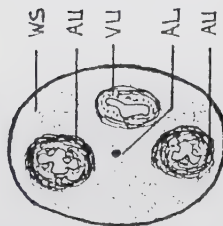
Dottersackstiel und Bauchstiel sind durch die extraembryonale Leibeshöhle voneinander getrennt und nur von der Amnionscheide zusammengehalten



Dottersackstiel und extraembryonale Leibeshöhle sind stark zurückgebildet, im Bauchstiel ist eine Nabelvene zurückgebildet



Nabelstrang eines drei Monate alten Embryos



Nabelstrang eines Neugeborenen

Abkürzungen: D = Dottersackstiel, B = Bauchstiel (mit Allantoisgang und Vasa umbilicalia),
A = Amnionscheide, EL = extraembryonale Leibeshöhle, M = Mesoderm,
AL = Allantoisgang, AU = Arteria umbilicalis, VU = Vena umbilicalis,
WS = Wharton'sche Sulze

Die Nabelschnur verbindet Plazenta und Embryo; sie stellt nach der Geburt einen weißlichen, etwa fingerdicken Strang dar. Die durchschnittliche Länge beträgt nach Ortmann (53) 60 cm mit - allerdings seltenen - Extremvarianten von 20 - 150 cm. 90 % der Nabelschnüre liegen im Spielraum von 40 - 80 cm (53).

Die Nabelschnur ist stets gedreht, meist (vom Nabel aus betrachtet) entgegen dem Uhrzeigersinn (13) und innerhalb des Fruchtsackes in Schleifen gelegt. Diese können sich durch die Bewegungen des Kindes als Schlingen um den Hals des Embryos legen oder Knoten bilden. Sogenannte 'falsche Knoten' entstehen durch Aufknäuelung einer oder mehrerer Umbilikalgefäße und sind relativ häufig, wohingegen 'wahre' Knoten relativ selten sind. Ein nur leicht angezogener wahrer Knoten ist nicht in der Lage, den venösen Perfusionsdruck zu beeinflussen (12).

Der Ansatz der Nabelschnur an der Plazenta erfolgt entweder in der Mitte (Insertio centralis) oder am Rande (Insertio marginalis). Bei der Insertio velamentosa reicht das Bindegewebe der Nabelschnur nicht ganz bis zur Plazenta (Verblutungsgefahr

für das Kind.

Die sogenannten Hoboken'schen Knoten entstehen nach der Geburt durch Kontraktion der Arterienmuskulatur (28). Diese können bei Kontrastmittelstudien regelmäßig festgestellt werden (15).

2.3 Mikroskopische Anatomie

Der reife Nabelstrang wird von dem 2 bis 3 Lagen platter Zellen bildenden Amnionepithel überzogen und besteht aus Gallertgewebe (Wharton'sche Sulze). Dieses beim Menschen nur in der Nabelschnur vorkommende gefäßlose Bindegewebe verdankt seinen Turgor dem hohen Gehalt an wasserbindender Hyaluronsäure. Die Faserbündel der Grundsubstanz sind aus teils präkollagenen, teils kollagenen Fibrillen, die zunächst locker (5. Monat), später straffer gebündelt und verfilzt sind. Die Faserbündel konstituieren schließlich ein mechanisch ausgerichtetes Netzwerk, in dessen Maschen als einzige Zellform Fibrozyten liegen. Die zuletzt ausgeschiedene Grundsubstanz ist unmittelbar um die Zellen noch faserarm (36). Die Grundsubstanz ist wichtig für den Stoffaustausch des nicht kapillarisierten Nabelstranges.

Ein lokalisiertes Fehlen der Wharton'schen Sulze bewirkt Torsionen und Konstriktionen des Nabelstranges mit konsekutivem Fruchttod (70).

Die Muskulatur der Umbilikalarterien bildet ein System gekreuzter Spiralen mit abwechselnden Steigungswinkeln, während das Bindegewebe einseitig in der Längsrichtung des Gefäßes verläuft (32). Dieses Schraubensystem bewirkt bei Kontraktion, elastischer Längsspannung und hohem Flüssigkeitsgehalt der Wharton'schen Sulze eine Erweiterung des Lumens. Bei Nachlassen der Längsspannung und Absinken des Flüssigkeitsgehaltes nach der Geburt verschließt die gleiche Gefäßmuskulatur die Arterienlichtung durch Ausbildung innerer Längswülste (28, 32, 33). Der Durchmesser der Umbilikalarterien beträgt in ungedehntem Zustand 1 - 3 mm, in gedehntem Zustand 2 - 4 mm (15). In 1 von 125 Fällen (0,8 %) fehlt nach Hertig (37) eine Umbilikalarterie in gesamter Länge.

Die Nabelschnurvene ist weniger muskelstark, besitzt aber im Vergleich zu den übrigen Körpervenvenen noch eine ausgeprägte Muskularis. Der Venendurchmesser beträgt in ungedehntem Zustand 3 - 7 mm, in gedehntem Zustand 6 - 10 mm (15). Über die Persistenz der Vena umbilicalis dextra wurde jüngst von Wunderlich et al. (75) berichtet.

Bei durchströmten Gefäßen nehmen diese beinahe den ganzen Querschnitt des Nabelstranges ein, so daß sich das Bild des fixierten Präparates nicht mit dem bei erhaltenem Kreislauf deckt (73).

Die Nabelschnur wird, ausgehend von der embryonalen Seite, bis zu einem Drittel ihrer Länge innerviert (79), die Nabelgefäße sind nervenfrei (4), ebenso der choriale Abschnitt der Nabelschnur (57).

Nabelschnurkomplikationen werden in 8,1 % der Fälle für den Intrauterinen Fruchttod verantwortlich gemacht (67).

2.4 Submikroskopische Anatomie

2.4.1 Epithel

Bei mäßiger Vergrößerung (etwa 500fach) und Untersuchung mit dem Rasterelektronenmikroskop besitzt die Oberfläche der Nabelschnur tiefe Furchen. Es sind flache, polygonale Zellen mit deutlichen Grenzen zu erkennen. Die Zellen liegen dicht beisammen, interzelluläre Kanäle sind nicht vorhanden. Teilweise finden sich Oberflächen-Desquamationen ebenso wie ein Oberflächenmaterial, welches meist in Form kleiner, unregelmäßig geformter Klümpchen auftritt und als Restzytoplasma desquamierter Epithelzellen angesehen wird. Bei stärkerer Vergrößerung (etwa 4500fach) finden sich auf den Epithelzellen dicht stehende Mikrovilli, die sich stellenweise auch zu kurzen Büscheln formieren können (56).

2.4.2 Endothel (der Umbilikalvene)

Im Transmissionselektronenmikroskop sind unter einer diskontinuierlichen, elastischen Membran zirkulär ausgerichtete, glatte Muskelzellen zu erkennen, während in der äußeren Media eine mehr

irreguläre Orientierung derselben anzutreffen ist. Kollagene und elastische Fasern zwischen den Muskelzellen geben der Muskelschicht ein gerüstartiges Aussehen.

Intrazellulär finden sich Fibrillenbündel, die das Zytoplasma in verschiedenen Richtungen durchkreuzen.

Weibel-Palade'sche Körperchen, wie sie für Endothelzellen typisch sind, können in 20 - 30 % der Zellen gefunden werden.

Das Zytoplasma enthält all diejenigen Organellen, welche gewöhnlich in Endothelzellen vorhanden sind, allerdings in größerer Anzahl als in den übrigen Blutgefäßen des Menschen. Dies deutet auf eine höhere Mitoserate und/oder einen höheren Metabolismus hin (24).

2.4.3 Fibroblasten

Folgender Befund konnte an kultivierten, fibroblasten-ähnlichen Zellen der menschlichen Umbilikalvenenwand erhoben werden:

Es handelt sich um spindelförmige Zellen, deren Zytoplasma eine große Anzahl feiner Fibrillen enthält. Diese ziehen meist alleine in alle Richtungen,

zuweilen sind sie zu Bündeln geordnet. Es sind erweiterte Zisternen des rauhen endoplasmatischen Reticulums anzutreffen, die mit einem feingranulierten Material angefüllt sind. Weibel-Palade'sche Körperchen können nicht beobachtet werden (24).

2.5 Physiologie

Nach Villee (69) beträgt der umbilikale Blutfluß nach 12wöchiger Schwangerschaft 30 ml/min und bei 28wöchiger Schwangerschaft 140 ml/min. Dies entspricht einem Blutfluß von 7 - 22 ml/100 g Fetalgewicht und Minute.

Insgesamt steigt der Blutfluß bei fortschreitender Schwangerschaft an, bleibt aber in Relation zu Körpergewicht und Zeiteinheit weitgehend konstant. Zum Zeitpunkt der Geburt soll der mittlere Blutfluß 171 ml/min betragen (11).

Dem Sphincter des Ductus venosus werden Regulationsfunktionen zugeschrieben; durch Veränderungen des venösen Blutflusses kann der Sphincter geschlossen bzw. ganz geöffnet werden (69).

Der systolische Blutdruck der Umbilikalarterie beträgt nach Margolis et al. (49) in utero 53 mm Hg, der Blutdruck der Umbilikalvene 24 mm Hg.

Demgegenüber wurden von Malpas et al. (48) während Sectio caesarea höhere Blutdruckwerte gemessen; diese betrugen für die Umbilikalarterie 88 mm Hg, für die Umbilikalvene 41 mm Hg.

2.6 Biochemie des Venengewebes

Venengewebe stellt stoffwechselaktives, autonomes Bindegewebe dar, dessen Funktionszustand durch die Stoffwechselleistungen der multifunktionalen Gefäßwandzellen (Fibroblasten und glatte Muskelzellen) aufrechterhalten wird. Diese besitzen Fähigkeiten zu umfangreichen Syntheseprozessen.

Die Permeierbarkeit des Venengewebes ist abhängig von der Struktur des subendothelialen Raumes. Bei größeren Venen findet sich ein Netzwerk kollagener Fibrillen, welches in ein Proteoglykanmolekül-Aggregat eingebettet ist. Proteoglykanmoleküle werden von den Gefäßwandzellen synthetisiert und als Strukturelemente in den Extrazellulärraum abgegeben, wo sie auf Grund ihrer Struktur sich zu makromolekularen Aggregaten zusammenlagern. Das hohe Wasserbindungsvermögen dieser Aggregate führt zu einer Verzögerung oder Verhinderung der Permeation von Fremdmolekülen. Durch diese Permeabilitätskontrolle üben diese Proteoglykan-

aggregate eine Molekularsiebfunktion aus (8).

Der Sauerstoffverbrauch der Venenwand ist 3 - 4mal geringer als der parenchymatöser Organe; im Stoffwechsel überwiegt der anaerobe Anteil, so daß von Glucose etwa 84 % glykolytisch und nur 16 % oxidativ verbrannt werden (44).

3. Experimenteller Teil

3.1 Operativer Teil:

Humane Nabelschnurgefäße als Ureterersatz

3.1.1 Vorbereitung der Nabelschnüre

Die verwendeten Nabelschnüre stammten aus dem Kreißsaal der Universitäts-Frauenklinik Mainz, wo diese sofort nach der Entbindung tiefgefroren und bei -18°C für 2 - 3 Tage aufbewahrt wurden.

Nach dem Wiederauftauen wurden die Nabelschnurvenen freipräpariert, wobei es nicht möglich war, die gesamte Wharton'sche Sulze abzupräparieren, so daß eine 2 - 3 mm umgebende Schicht Sulze verblieb.

Stellenweise erwies es sich als schwierig, die Erythrozyten-Aggregationen zu entfernen; wo dies nicht mit Sicherheit gelang, wurden die entsprechenden Gefäßteile verworfen.

Die übrigen Venen wurden in 4 - 10 cm lange Stücke zerteilt, mehrfach in physiologischer Kochsalzlösung gewaschen und anschließend unter Verwendung eines Operationsmikroskopes (Carl Zeiss, Oberkochen) auf eventuelle Verletzungen der Venenwand kontrolliert.

Die weitere Aufbewahrung bis zum Zeitpunkt der Operation erfolgte in physiologischer Kochsalzlösung mit einem Zusatz von Gentamycin.

3.1.2 Operationsvorbereitungen

Nach Möglichkeit wurde vor der Operation auf eine mehrstündige Flüssigkeits- und Nahrungskarenz der Tiere geachtet.

Kaninchen:

Nach dem Rasieren eines Löffels wurde dieser mit Xylol betupft, was eine ausgeprägte Vasodilatation hervorrief. Sodann wurden mit einer 17g-Nadel 25 mg Nembutal^R/kg Körpergewicht in eine der Löffelvenen injiziert.

Hunde:

Nach dem Rasieren einer Extremität wurden die Hunde mit 25 mg Nembutal^R/kg Körpergewicht durch intravenöse Injektion narkotisiert; es wurden keine Muskelrelaxantien verabreicht.

3.1.3 Operationsdurchführung

Die Operationstechnik war nach Möglichkeit bei allen Tieren gleich.

Nach Narkose und Nacktrasur wurden die Extremitäten der Tiere mittels Mullbinden am Operations-

tisch befestigt; es erfolgte eine Seitenlagerung der Tiere sowie Oberflächendesinfektion mittels Betaisodona^R und die sterile Abdeckung.

Die aufgetauten Nabelschnüre wurden mit physiologischer Kochsalzlösung abgespült. Sodann wurde ein steriler Polyäthylenschlauch (Durchmesser 2 mm) auf die benötigte Länge gekürzt und an den Enden schräg zugespitzt, was ein leichteres Einführen in die Kaninchenureteren ermöglichen sollte. Der Schlauch wurde mit einem Gleitmittel (Instillagel^R/Farmitalia) versehen und die zu transplantierende Nabelschnur hiermit gesplintet. Die Lagerung bis zur Transplantation erfolgte für durchschnittlich 20 Minuten in einer Gentamycin-Lösung.

Es wurde ein lateraler, transperitonealer Flankenschnitt gelegt und der Ureter in ganzer Länge dargestellt. Zunächst wurden proximal und distal des zu entfernenden Ureterabschnittes Haltefäden angeschlungen, um ein Abgleiten desselben nach Durchtrennung in den Bauchraum zu vermeiden. Nach Durchtrennung und Entfernung des mittleren Ureterabschnittes wurde die gesplintete Nabelschnurvene derart transplantiert, daß der Splint nach Möglichkeit vom Nierenbecken bis zur Blase reichte.

Hierbei ergaben sich Schwierigkeiten bei den Kaninchen, da in den meisten Fällen der Splint auf Grund seines doch relativ großen Durchmessers nur schwer in das Lumen des Ureters einzuführen war. In der Regel war auch das Kaliber der Nabelschnurvene größer als das des Kaninchenureters, so daß teilweise der Harnleiter in die Vene intubiert und so fixiert wurde.

Die Länge der transplantierten Nabelschnurvenen betrug bei den Kaninchen 2 - 10 cm, bei den Hunden 5 - 15 cm. Die Transplantation wurde stets im mittleren Ureterdrittel durchgeführt.

Das Transplantat wurde durch End-zu-End-Anastomosen mittels dreier Einzelknopfnähte pro Anastomosenstelle an den Ureterstümpfen fixiert. Dies wurde teilweise unter Verwendung eines Mikrooperationsbesteckes und eines Operationsmikroskopes (Carl Zeiss, Oberkochen) durchgeführt (siehe Abb. 2 und 3). Als Nahtmaterial diente 6/0 atraumatisches Chromcatgut (Atralog^R/Ethicon) jeweils für die Anastomosen; der Verschluß des Peritoneums erfolgte durch Einzelknopfnähte mit Catgut 1/0, die Bauchdecken wurden schichtweise mit kräftiger Seidennaht verschlossen.

3.1.4 Nachsorge

Sämtliche Tiere erhielten sofort nach der Operation sowie in den drei folgenden Tagen 1 mg Gentamycin/kg Körpergewicht intramuskulär.

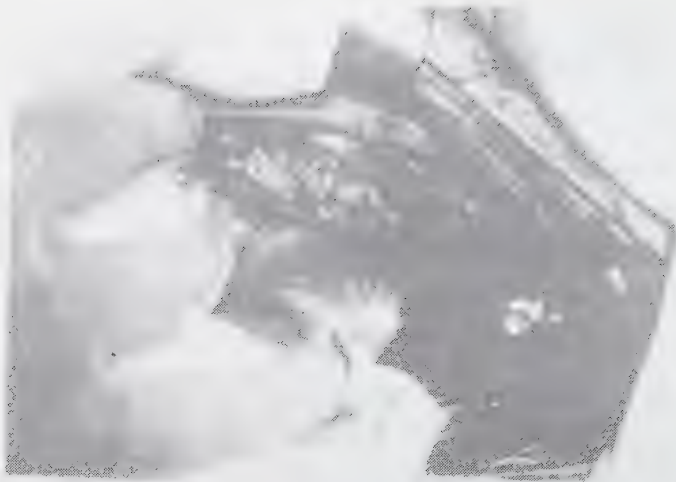


Abb. 2: Dargestellter Kaninchenureter mit
angeschlungenen Halterfäden

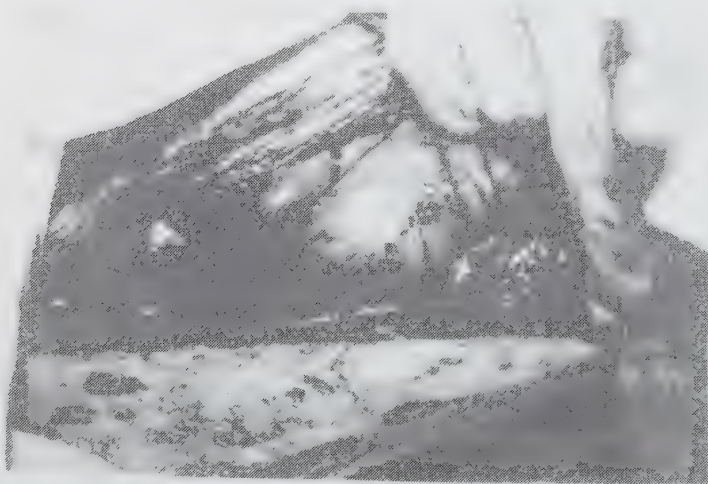


Abb. 3: Situation nach Transplantation
humaner Umbilikalvene

3.1.5 Ergebnisse: Kaninchen

Zur Operation gelangten 24 Kaninchen männlichen und weiblichen Geschlechts mit einem Anfangsgewicht von 1,7 bis 3,0 kg.

Insgesamt waren die Ergebnisse hinsichtlich der Funktion unbefriedigend, da sich bei allen Tieren im Laufe der Zeit Hydronephrosen entwickelten. Schwierigkeiten ergaben sich bei den Versuchen zur Urographie, da die kleinen Löffelvenen der Tiere auf die Applikation von 20 - 40 ml 60 %igem Conray^R-Kontrastmittel mit septischen Thrombophlebitiden und in der Folge mit partiellen Nekrosen des Löffels reagierten. In einem Falle wurde sogar der totale Verlust eines Löffels beobachtet.

Postoperative Urogramme wurden bei den Tieren K 40-47, K 49-51 und bei K 61 angefertigt. Bei den Tieren K 47, K 58 sowie K 60-62 konnten nach Ablauf von 6 Monaten Kontroll-Urogramme angefertigt werden.

Der makroskopische Sektionsbefund wurde nach dem Spontanod der Tiere bzw. nach Tötung der Tiere durch eine Überdosis Nembutal^R erhoben. Nach der Eröffnung der Bauchhöhle fanden sich bei den Tieren K 40-42 und K 52 Verwachsungen der Darm-

schlingen, Abszedierungen wurden bei K 54 und K 55 festgestellt, Restzustände abgelaufener Peritonitiden fanden sich bei den Tieren K 43-47, K 51 und K 53.

Die transplantierten Nabelschnurvenensegmente waren jedoch in allen Fällen intakt, es konnten keine lokalen Entzündungsreaktionen festgestellt werden.

Deutlich hingegen waren bei allen untersuchten Sektionspräparaten starke Narbenstrikturen im Anastomosenbereich, ebenso wie (hierdurch bedingte) Erweiterungen des Pyelons.

Die Tiere K 49-53, K 55 und K 63 verstarben innerhalb von 2 Monaten aus ungeklärten Ursachen.

Tabelle 4 : Ergebnisse der Tierversuche - Kaninchen

Tier Nr.	Implantat- länge	postop. Urogramm	Kontroll- urogramm	Überlebens- zeit (Monate)
K 40	2 cm	+	-	5
K 41	3 cm	+	-	5
K 42	3 cm	+	-	4
K 43	4 cm	+	-	5
K 44	5 cm	+	-	4
K 45	3 cm	+	-	4
K 46	4 cm	+	-	4
K 47	3 cm	+	-	3
K 48	4 cm	-	+	7
K 49	5 cm	+	-	2
K 50	4 cm	+	-	2
K 51	4 cm	+	-	2

Tabelle 4 : Ergebnisse der Tierversuche - Kaninchen

Tier Nr.	Implantat- länge (cm)	postop. Ürogramm	Kontroll- uogramm	Überlebens- zeit (Monate)
K 52	3 cm	-	-	2
K 53	4 cm	-	-	2
K 54	2 cm	-	-	3
K 55	2 cm	-	-	1
K 56	5 cm	-	-	0
K 57	4 cm	-	-	1
K 58	3 cm	-	+	6
K 59	2 cm	-	-	4
K 60	3 cm	-	+	6
K 61	5 cm	-	+	6
K 62	4 cm	-	+	6
K 63	4 cm	-	+	6



Abb. 4: Postoperatives Urogramm K 47;
Ureterersatz 3 cm mit humaner
Umbilikalvene rechts



Abb. 5: Kontrollurogramm nach 6 Monaten Überlebenszeit (K 58); Ureterersatz 3 cm rechts mit humaner Umbilikalvene. Deutliche Erweiterung des Pyelons proximal der Anastomose

3.1.6 Ergebnisse: Hunde

Zur Operation gelangten 11 Bastardhunde männlichen und weiblichen Geschlechts mit einem Anfangsgewicht von 8 - 35 kg.

Die Haltung der Tiere erfolgte im universitätseigenen Tierstall.

8 Hunden wurde zur Ureterschienung ein Ureterkatheter (Charr. 4-5) gelegt, der transvesikal unter einem Felitunnel nach außen geleitet wurde. Hierbei ergab es sich, daß sich die Hunde die Splinte im Laufe der Zeit selbst extrahierten.

Die Kontroll-Urographie wurde nach 1 bzw. 3 Monaten durchgeführt und ergab in 2 Fällen eine Hydro-nephrose, in 3 Fällen eine Kaliektasie. 4 Hunde konnten wegen ungeklärten Umständen, die den Tod der Tiere herbeiführten, nicht geröntgt werden. Bei einem Hund (B 3) war kein pathologischer Röntgenbefund zu erheben.

Der makroskopische Sektionsbefund wurde nach dem Spontan-tod der Tiere bzw. nach Nembutal^R-Überdosierung erhoben. Es ergaben sich keine Anzeichen einer abgelaufenen Peritonitis, die Darmschlingen waren bei keinem der Tiere verwachsen (siehe Tabelle 5).

Tab. 5 : Ergebnisse der Tierversuche - Hunde

Tier Nr.	Kontrollurogramm	in	Woche	Splintentfernung
B 1	Pyonephrose		1	-
B 2	NBKS-Ektasie ¹		11	8. Tag post Op.
B 3	o.B.		6	6. Tag post Op.
B 4	Hydronephrose		3	-
B 5	Hydronephrose		14	8. Tag post Op.
B 6	NBKS-Ektasie		7	6. Tag post Op.
B 7	NBKS-Ektasie		7	6. Tag post Op.
B 8	---		-	(verstorben)
B 9	---		-	(verstorben)
B 10	---		-	(verstorben)
B 11	---		-	(verstorben)

¹ NBKS = Nierenbecken-Kelchsystem

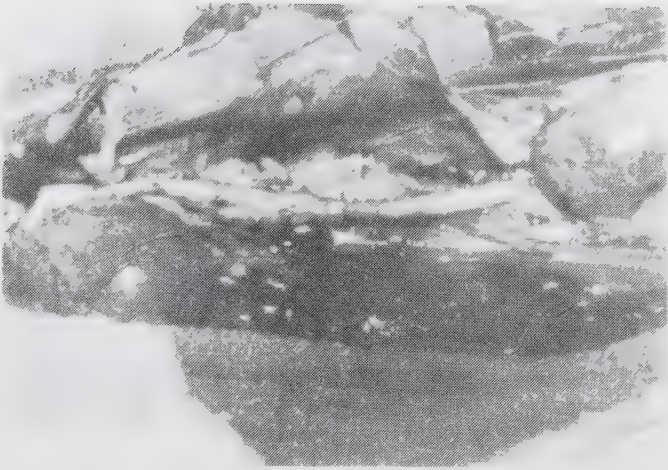


Abb. 6: Beagle B 5; Überlebenszeit 20 Monate;
Zustand nach Uretertotalersatz.

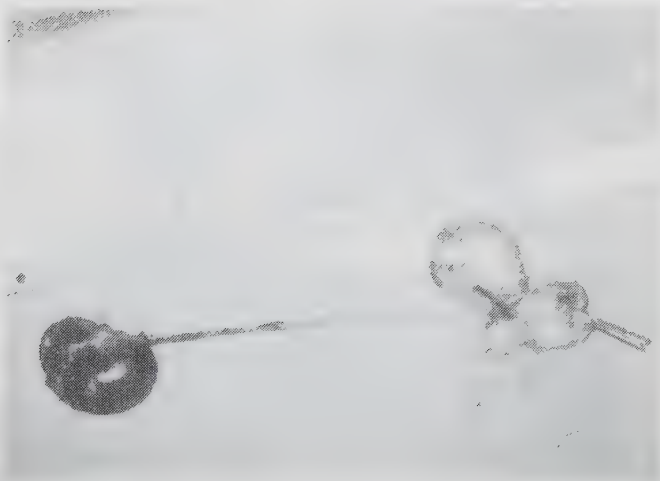


Abb. 7: Beagle B 5; Übersicht des Sektions-
präparates.

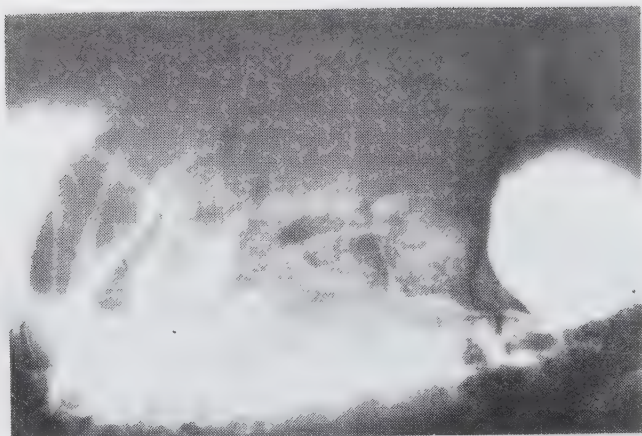


Abb. 8: Hund B 6; Infusionsurogramm mit 100 ml ConrayR; 25 Monate nach linksseitigem Ureterersatz.

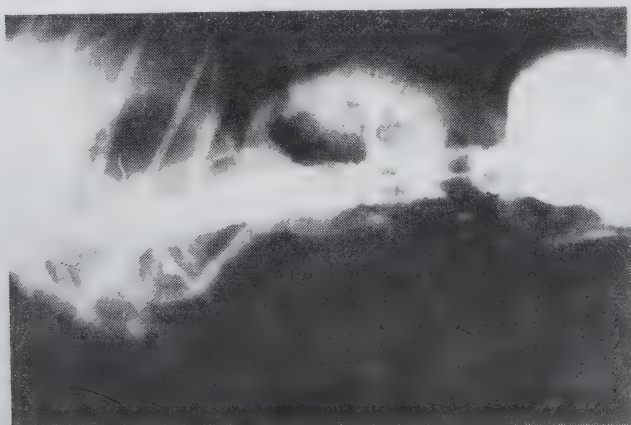


Abb. 9: Hund B 6; Infusionsurogramm mit 100 ml ConrayR; 12 Monate nach linksseitigem Ureterersatz.

3.1.7 Mikroskopische Befunde

Teilweise wurde das Sektionsmaterial histologisch untersucht, wobei jeweils Schnitte des Tier-Ureters, der ursprünglichen Nabelschnur sowie der Nabelschnur nach Transplantation angefertigt wurden.

Die implantierten Nabelschnurgefäß-Segmente waren nicht mehr als solche zu erkennen; sie zeigten eine veränderte, urothelartige Innenauskleidung, die im Vergleich zum normalen Ureter jedoch von insgesamt undifferenzierterer Struktur war.

Der Aufbau der Muscularis entsprach noch weitgehend demjenigen der ursprünglichen Nabelschnurgefäße. In der Bindegewebsschicht der Adventitia fanden sich zahlreiche kleine, longitudinal verlaufende Gefäße.

Unterschiede hinsichtlich der Vernarbungstendenz in bezug zur Anastomosentechnik (Urothel mit der Naht gefaßt oder nicht) konnten im Gegensatz zu den Untersuchungen von Albers et al. (1) nicht gefunden werden.

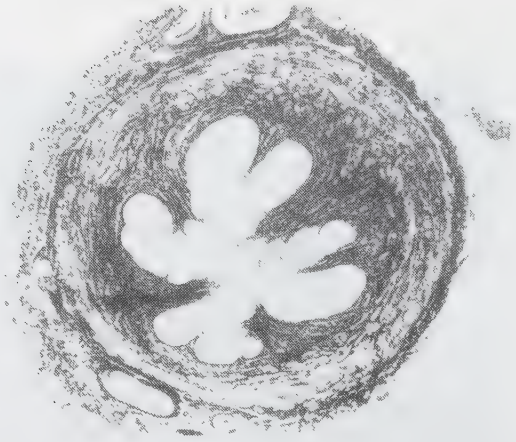


Abb. 10: Kaninchenureter; Arteria ureterica
am oberen Bildrand erkennbar



Abb. 11: Humane Nabelschnur; Vena umbilicalis
rechts im Bild

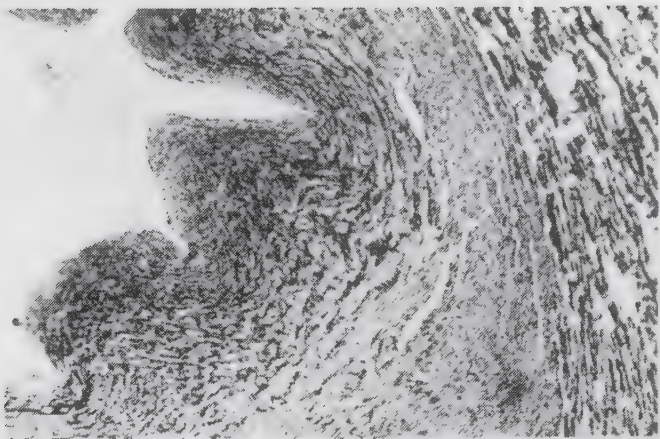


Abb. 12: Ausschnittvergrößerung der Vena umbilicalis; überwiegend zirkulär verlaufende Muskelfasern in der Muscularis

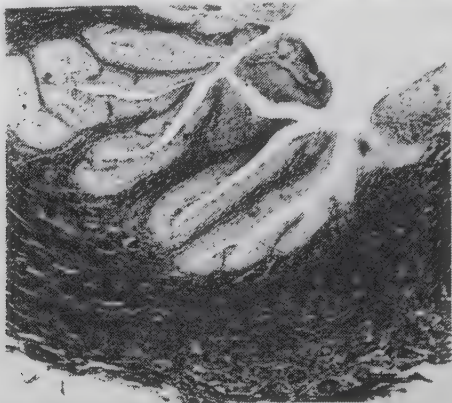


Abb. 13: Nabelschnurvene nach Transplantation; zirkulärer Muskelfaserverlauf deutlich erkennbar. Urothelartige Innenauskleidung (vgl. hierzu Abb.10)

3.2 Immunologischer Teil:

Untersuchung über die Antigenität der Nabelschnur im Mäusesystem BALB/c und CBA/J

3.2.1 Fragestellung

Es sollte untersucht werden, ob jeweils modifiziert vorbehandeltes Nabelschnurgewebe in der Lage ist, in einem Transplantatempfänger eine Generierung zytotoxischer T-Lymphozyten zu induzieren.

3.2.2 Grundlagen

Diejenigen Antigene, welche in der Lage sind, eine Abstoßungsreaktion auszulösen, werden als Histokompatibilitätsantigene oder Transplantationsantigene bezeichnet; sie sind genetisch determiniert. Die sie steuernden Gene sind verschiedenen Genorten (Loci) zuzuordnen.

Die Maus besitzt auf dem Chromosom 17 den sogenannten H2-Komplex (Major Histokompatibilitätskomplex); er entspricht dem HLA- (Human leucocyte antigen) System des Menschen. Diesem Komplex fallen bei Transplantationsreaktionen zentrale Funktionen zu.

Innerhalb der zentral gelegenen I-Region des H2-Komplexes wird ein Transplantationsantigen codiert: H2-I (SD 3), welches zur Transplantatabstoßung (41) und zur Generierung zytotoxischer Lymphozyten (71) führen kann. Die genetische Kontrolle der H2-Antigene erfolgt durch die benachbart liegenden Gene der Loci H-2K (SD 1) und H-2D (SD 2).

Diese Gene sind in der Lage, voneinander unterscheidbare Transplantationsantigene zu determinieren. Die Antigene des Histokompatibilitätssystems können in eine serologisch determinierbare Gruppe (SD) und in eine durch die Funktion der Lymphozyten determinierbare Gruppe (LD) unterteilt werden. Während die SD-Antigene mit spezifischen Antiseren nachweisbar sind, können die LD-Determinanten zur Zeit lediglich durch Transformation von Lymphozyten nach mehrtägiger in-vitro-Kultur nachgewiesen werden (46). Die LD-Unterschiede zweier genetisch differenter Individuen werden in der 'mixed-lymphocyte-reaction' (MLC) erfaßt.

3.2.3 Testprinzip

Die Inzuchtmäusestämme BALB/c (H-2D) und CBA/J (H-2K) sind in bezug auf ihre Histokompatibilitätsantigene genau definiert.

Inzuchtmäuseembryonen des Stammes BALB/c werden die Nabelschnüre entnommen und adulten Mäusen des Inzuchtstammes CBA/J intraperitoneal implantiert. Hierdurch soll den Empfängerlymphozyten ein maximaler Kontakt mit dem Transplantat geboten werden (81). Nach 20 Tagen wird eine Splenektomie durchgeführt, um zu überprüfen, ob die Bildung spezifischer anti-BALB/c-Lymphozyten (Responderzellen) induziert worden ist. Hierzu wird die 'one-way-mixed-lymphocyte-reaction' (MLC) durchgeführt.

Es werden BALB/c-Milzzellen isoliert und zusätzlich durch Röntgenbestrahlung inaktiviert, so daß diese zwar als Stimulatoren wirken können, jedoch ihre eigene Generierung (im Sinne der 'graft-versus-host-reaction') ausgeschlossen ist.

Die funktionsunfähigen, aber antigen wirkenden BALB/c-Lymphozyten werden dann mit den funktionsfähigen (und vielleicht sensibilisierten) CBA/J-Lymphozyten zusammengebracht.

Hat in vivo eine Sensibilisierung der CBA/J-Lymphozyten stattgefunden, so erfolgt jetzt in vitro die Generierung spezifisch anti-BALB/c-determinierter zytotoxischer T-Lymphozyten (Killerzellen).

Den so primär sensibilisierten und sekundär aktivierten CBA/J-Killerzellen werden nun radioaktiv

markierte Zielzellen angeboten. Diese Zielzellen sind in Suspensionskultur wachsende Tumorzellen des Typs Mastozytom P 815; sie tragen die gleichen Transplantationsantigene wie die Lymphozyten des Stammes BALB/c (H-2D).

Erhalten die anti-BALB/c-determinierten Lymphozyten nun Kontakt mit den markierten Tumorzellen, so tritt eine 'cell-mediated-lysis'(CML) ein: die Zielzellen werden zerstört, und intrazellulär gelagertes ^{51}Cr wird frei. Durch Zentrifugieren und getrennte Bestimmung der Radioaktivität in Sediment und Überstand kann so ein Maß für die Zahl der Killerzellen bzw. deren Aktivität gewonnen werden (siehe Schema 1).

S C H E M A 1 : M L C und C M L

1. Primäre Sensibilisierung in vivo :
BALB/c-Nabelschnur $\xrightarrow{\text{implantiert in}}$ CBA/J-Mäuse $\xrightarrow{\text{splenektomiert}}$ CBA/J-Responderzellen
2. Gewinnung der Stimulatorzellen für die MLC :
BALB/c-Mäuse $\xrightarrow{\text{splenektomiert}}$ BALB/c-Milzzellen $\xrightarrow{\text{bestrahlt}}$ BALB/c-Stimulatorzellen
3. Sekundäre Aktivierung in vitro :
CBA/J-Responderzelle + BALB/c-Stimulatorzelle $\xrightarrow{\text{inkubiert}}$ CBA/J-Killerzelle
4. Gewinnung der Zielzellen für die CML :
Tumorzellen P 815 $\xrightarrow{\text{mit } ^{51}\text{Cr inkubiert}}$ Zielzellen
5. Zytotoxizitätstest ('cell mediated lysis', CML) :
CBA/J-Killerzelle + Zielzelle $\xrightarrow{\text{inkubiert}}$ Zielzell-Lyse und ^{51}Cr -Freisetzung

3.2.4 Methodik

Hochtragenden BALB/c-Mäusen wurden in Äthernarkose die Embryonen durch Sectio caesarea unter aseptischen Kautelen entnommen. Die Nabelschnüre wurden abgetrennt und mehrmals in physiologischer Kochsalzlösung und Hayem'scher Lösung gereinigt und adulten CBA/J-Mäusen unter aseptischen Kautelen intraperitoneal implantiert.

Um Unterschiede in der Immunogenität jeweils modifiziert behandelter Nabelschnüre zu erfassen, wurden folgende Versuchs- und Kontrollgruppen gebildet:

Gruppe A: Unbehandelte allogene Nabelschnur

Gruppe B: Unbehandelte syngene Nabelschnur

Gruppe C: Langsam eingefrorene Nabelschnur
(2 Stunden bei -18°C)

Gruppe D: CO_2 -schockgefrorene Nabelschnur

Gruppe E: In Glutaraldehyd gelagerte Nabelschnur
(2 Stunden bei Raumtemperatur und pH 7,0)

Gruppe F: Allogene Hauttransplantate
(Differentialkontrolle)

Gruppe G: Intraperitoneale Injektion von 50×10^6
BALB/c-Milzzellen (Positivkontrolle)

Gruppe H: Scheinoperierte Tiere (Laparotomie ohne
Implantation - Negativkontrolle)

Jede Versuchsgruppe umfaßte 8 - 10 Versuchstiere.

20 Tage nach der Implantation wurden die Tiere unter aseptischen Kautelen splenektomiert. Die so erhaltenen Milzen wurden jeweils einzeln in 10 ml Dulbecco's modified eagle medium (DMEM; Grand Island Biological Company, USA, Cat. No. H-16) gegeben und mitsamt dem Medium auf ein feinmaschiges Sieb (mesh 80), welches sich in einer Petrischale befand, geschüttet. Hier wurden die Milzen zerschnitten und mittels eines Mörsers durch das Sieb passiert. Die so erhaltene Milzzellsuspension wurde mit fetalem Kälberserum (FCS) unterlegt und für Minuten bei 1500 Upm zentrifugiert. Durch den Dichteunterschied setzten sich Fettzellen, tote Zellen etc. im FCS ab und konnten dann abgesaugt werden. Dieser Reinigungsvorgang wurde nochmals wiederholt. Danach wurden die Zellen exakt zu 10 ml Suspension aufgefüllt und die Zahl der lebenden Lymphozyten pro ml durch das Eosin-Ausschluß-Verfahren in der Zählkammer nach Neubauer festgestellt. Die so erhaltenen CBA/J-Milzzellen wurden auf eine Konzentration von 4×10^6 Zellen/ml eingestellt.

Die Stimulatorzellen (BALB/c) wurden ebenfalls nach dem beschriebenen Verfahren gewonnen. Sie wurden jedoch - zum Ausschluß ihrer möglichen

Generierung - mit einer Dosis von 2000 rad bestrahlt und auf eine Konzentration von 1×10^6 Milzzellen/ml eingestellt, da es sich gezeigt hat, daß eine gute Reaktion beim Verhältnis Responder- : Stimulatorzellen von 4×10^6 : 1×10^6 zu erwarten ist.

Je ein ml Responder- und Stimulatorzellen wurden in eine Vertiefung einer Kulturplatte (Costar) - pipettiert, und anschließend wurden die Kulturplatten in einem Inkubator (Heräus B 5060 EK / CO₂) bei 37 °C und 10 % CO₂-Spannung für 3 bzw. 5 Tage bebrütet.

Nach dieser Zeit ist eine optimale Immunantwort erreicht, d. h. die Responderzellen (CBA/J) haben sich zu reaktionsfähigen zytotoxischen T-Zellen (Killerzellen) differenziert. Ihre Fähigkeit, fremde Zielzellen zu lysieren, wurde anschließend im Zytotoxizitätstest (chrome-release-test; 'cell-mediated-lysis') gemessen.

Zunächst erfolgte die ⁵¹Cr-Markierung der Zielzellen. Hierzu wurden die benötigten Zellen (in Suspensionskultur wachsende Tumorzellen des Typs P. 815 - Transplantationsantigenmuster wie BALB/c) geerntet, für 5 Minuten bei 1500 Upm zentrifugiert und das Sediment mit 1 - 2 ml DMEM resuspendiert. 3 - 5×10^6 Zellen wurden in 0,5 ml Volumen mit

80 μ Ci ^{51}Cr (0,1 ml) für 45 Minuten bei 37 °C und 10 % CO_2 -Spannung inkubiert. Während dieser Inkubationszeit nahmen die Zielzellen das radioaktive Chrom auf. Danach wurden die Zellen vom nicht inkorporierten ^{51}Cr befreit, indem sie, in 10 ml DMEM aufgenommen und mit 1 ml FCS unterlegt, für 5 Minuten bei 1500 Upm zentrifugiert wurden. Der (radioaktive) Überstand wurde abgesaugt und der Reinigungsvorgang wiederholt. Anschließend wurden die Zellen in 5 ml DMEM resuspendiert, gezählt und auf eine Konzentration von 2×10^5 Zellen/ml eingestellt. Während der Inkubationszeit der Zielzellen erfolgte die Präparation der in vitro sensibilisierten Lymphozyten.

Die Lymphozyten wurden geerntet, mit 1 ml FCS unterlegt und für 5 Minuten bei 1500 Upm zentrifugiert. Der Überstand wurde abgesaugt und das Zellsediment in 5 ml frischem Medium resuspendiert. Die Anzahl der lebenden Zellen wurde wiederum mittels des Eosin-Ausschluß-Verfahrens bestimmt, die Suspensionen auf eine Konzentration von 1×10^6 Zellen/ml eingestellt und in 3,5 ml fassende Chromium-Test-Tubes (Greiner, Nürtingen, Kat.-Nr. 175) in 1 ml Aliquots pipettiert. Zusätzlich lief noch ein Versuchsansatz einer 1 : 10 Verdünnung, so daß sich, da alle Messungen als Doppelmessungen ausge-

führt wurden, 4 Werte pro Versuchstier ergaben.

Von der erhaltenen Suspension der ^{51}Cr -markierten Zielzellen wurden $100\ \mu\text{l}$ in jedes Teströhrchen pipettiert und die Röhrchen zur Kontaktaufnahme zwischen Killer- und Zielzellen für 1 Minute bei 1000 Upm zentrifugiert und anschließend für 3 Stunden bei $37\ ^\circ\text{C}$ und 10 % CO_2 -Spannung inkubiert. Nach Inkubation wurde jeweils 1 Tropfen einer Schafserythrozyten-Suspension zugefügt, um ein sichtbares Sediment zu erhalten; anschließend wurden die Röhrchen für 5 Minuten bei 2000 Upm zentrifugiert. Der Überstand wurde mit Pasteurpipetten vorsichtig vom Sediment abgehoben und in dafür bereitgestellte Röhrchen pipettiert. Zur Kontrolle der Spontanlyserate (spontane ^{51}Cr -Freisetzung) dienten 2 Röhrchen, welche zwar Medium und Zielzellen, jedoch keine Killerzellen enthielten.

Die Radioaktivität von Sediment und Überstand wurde in einem Gammazähler (Packard Autogamma Spectrometer, Mod. 3380) in 'counts per minute' gemessen.

Nun konnte die Berechnung des Lysewertes erfolgen, wobei der Prozentsatz spezifischer Lyse nach folgender Formel (72) mit Hilfe eines Rechners bestimmt wurde:

$$\% \text{ spezifische Lyse} = \frac{{}^{51}\text{Cr-Freisetzung durch Killerzellen} - {}^{51}\text{Cr-Freisetzung normaler Zellen}}{\text{maximale } {}^{51}\text{Cr-Freisetzung} - {}^{51}\text{Cr-Freisetzung normaler Zellen}}$$

3.2.5 Ergebnisse

Aus Tabelle 6 geht hervor, daß allogenen transplantiertes Nabelschnurgewebe (Gruppe B) eine geringe Zielzell-Lyse-Aktivität von im Mittel 6,5 % im 3-Tage-Assay auslöst, wohingegen die syngen transplantierte Nabelschnur im gleichen Zeitraum keine Lyse-Aktivität bewirkt. Die prozentualen Lyseraten der 5-Tage-Assays sind nach den Gesetzen der einfachen Wahrscheinlichkeit nicht different.

In Tabelle 7 werden die prozentualen Lyseraten jeweils modifiziert vorbehandelter Nabelschnüre dargestellt. Hier ist festzustellen, daß keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich der Killerzell-Aktivität vorhanden sind. Insgesamt liegen die Werte deutlich niedriger als bei der unbehandelt transplantierten allogenen Nabelschnur. Dies scheint die Auffassung zu bestätigen, daß Tiefgefrieren ebenso wie die Glutaraldehyd-Vorbehandlung in der Lage ist, die Immunogenität von Transplantaten zu reduzieren (3, 15, 26, 30, 39).

Die Lyseraten der Kontrollgruppen zeigen, daß allogene Hauttransplantate (Gruppe G, $99,25 \pm 1,0$ %) die stärkste Killerzell-Aktivität induzieren, wohingegen allogene Milzzellen auffälligerweise sowohl im 3-Tage-Assay als auch im 5-Tage-

Assay unter den Werten der Gruppe G liegen.

Möglicherweise werden die Lymphozyten durch die mechanische Behandlung alteriert.

Scheinoperierte Tiere (Gruppe H) verhalten sich erwartungsgemäß mit nur unbedeutenden Lyseraten.

Tab. 6 : Prozentuale Lyseraten (in % spezifischer Lyse) der Versuchsgruppen A und B.

Tier Nr.	Gruppe A (syngene Nabelschnur, CBA/J ./. CBA/J)		Gruppe B (allogene Nabelschnur, BALB/c ./. CBA/J)	
	3-Tage-Assay	5-Tage-Assay	3-Tage-Assay	5-Tage-Assay
1	0	39	20	48
2	0	67	4	61
3	0	58	3	35
4	0	49	4	47
5	0	58	4	56
6	0	97	5	53
7	0	63	3	42
8	0	40	7	55
9	0	70	5	49
10	0	35	-	-
Spontanlyserate	12,12	7,09	6,04	16,0
Mittelwert	-	57,6	6,5	49,9
Standardabweichung	-	18,4	5,2	1,4

Tab. 7 : Prozentuale Lyseraten (% spezifischer Lyse) der Versuchsgruppen C, D und E

Tier Nr.	Gruppe C (CO ₂ -schockgefrorene Nabelschnur)		Gruppe D (langsam gefrorene Nabelschnur)		Gruppe E (Glutaraldehyd-behandelte Nabelschnur)	
	3-d-Assay	5-d-Assay	3-d-Assay	5-d-Assay	3-d-Assay	5-d-Assay
1	1	4	1	0	2	0
2	0	3	0	2	1	0
3	1	2	1	-	0	1
4	0	4	0	0	3	0
5	0	2	0	0	0	0
6	4	6	3	1	1	0
7	0	1	1	2	4	0
8	0	0	0	0	8	0
9	1	0	0	0	3	2
10	0	0	0	1	-	-
Mittelwert	0,7	2,2	0,6	0,6	2,4	0,3
Standardab- weichung	1,2	2,1	0,9	0,8	2,5	0,7

Tab. 8: Prozentuale Lyseraten (% spezifische Lyse) der Versuchsgruppen F, G und H

Tier Nr.	Gruppe F (Milzzellen)		Gruppe G (Haut)		Gruppe H (scheinoperierte Tiere)	
	3-d-Assay	5-d-Assay	3-d-Assay	5-d-Assay	3-d-Assay	5-d-Assay
1	11	51	15	97	1	0
2	11	81	38	99	1	1
3	6	26	16	100	0	0
4	5	25	33	100	5	0
5	7	34	33	100	0	2
6	11	35	40	100	1	0
7	18	59	45	99	2	1
8	10	45	29	99	2	0
9	14	72	-	-	0	0
10	-	-	-	-	0	0
Mittelwert	10,3	47,5	31,1	99,3	1,2	0,4
Standard- abweichung	4,0	19,9	10,8	1,0	1,5	0,6

4. Diskussion

4.1 Das Konzept der Bioprothese an Hand des Ureterersatzes

Das Konzept der Bioprothese in Sinne Carpentier's (9) läßt sich - wie die Ergebnisse zeigen - nicht ohne weiteres auf die hier verwendete Methode des Ureterersatzes mittels humaner Umbilikalgefäße übertragen, denn zum einen wurde keine Denaturierung antigener Determinanten vorgenommen und trotzdem keine Abstoßungsreaktionen beobachtet und zum anderen hat es sich gezeigt, daß in diesem Falle eine Gewebsstabilisierung gerade unerwünscht und für die Regeneration des Transplantates eine hinderliche Barriere gewesen wäre.

Das Venengewebe, ohnehin ein nur schwach antigenes Gewebe (3, 7, 21, 51), wurde durch den Gefrier/Auftau-Prozeß in seiner Immunogenität noch weiter reduziert (26, 30) und vor allen Dingen de-endothelisiert (30), wodurch die subendotheliale Basalmembran mit ihren typischen Eigenschaften (3, 30) zum Vorschein kam. Diese stellte offenbar eine "Leitschiene" für das Einwachsen des Urothels dar.

Möglicherweise besteht bei der außergewöhnlich guten Einheilung der als Xenotransplantate verwendeten humanen Umbilikalvenen ein Zusammenhang mit der Wharton'schen Sulze, welche nicht nur ontogenetisch, sondern auch altersmäßig ein sehr junges Gewebe darstellt, in dem Sinne, daß dem empfängereigenen Reparationssystem eine für die Regeneration besonders prädisponierte Struktur angeboten wird. Dieses beim Menschen ausschließlich in der Nabelschnur vorkommende Gewebe (36) ist meines Wissens bisher noch nicht auf seine Antigenität hin untersucht worden.

Die hier gefundenen Befunde ähneln den von Tice et al. (66) an xenologen und Breitenecker (7) an homologen Transplantaten erhobenen Ergebnissen derart, daß in Anlehnung an diese Autoren (dieser spricht von der Bildung einer 'Neointima', jener von der Bildung eines 'Neoendothels'), das regenerierte Urothel als 'Neourothel' bezeichnet werden kann. Auffällig ist, daß beide Autoren die Methode des Gefrierens und Wiederauftauens anwenden.

Sicherlich war die Transplantateinheilung auch deshalb begünstigt, weil die Umbilikalgefäße - im Gegensatz zu systematischen Gefäßen - keine Vasa Vasorum besitzen. Eine Ernährung etwa über-

lebender Fibrozyten über die Peritonealflüssigkeit (per diffusionem) ist somit denkbar.

Die Vorteile der Verwendung modifizierter Umbilikalgefäße können auf Grund bisheriger Erkenntnisse wie folgt zusammengefaßt werden :

- (1) Geringe Immunogenität
- (2) Geringe Thrombogenität
- (3) Fehlen altersbedingter Gefäßveränderungen
- (4) Auswahl in bezug auf Länge und Durchmesser des Gefäßes ist möglich
- (5) Ständige Verfügbarkeit (praktisch in jedem Kreißsaal)
- (6) Geringer Kostenaufwand
- (7) Leichte Handhabung und verkürzte Operationsdauer
- (8) Fehlen von Venenklappen
- (9) Möglichkeit einer Regeneration durch empfängereigenes Gewebe

Der Nabelschnur wurde bislang von experimenteller wie auch klinischer Seite nur wenig Beachtung geschenkt. Sollte sich die Biokompatibilität dieses Gewebes erhärten - insbesondere Langzeitstudien stehen noch aus - so bieten sich zahlreiche Einsatzgebiete für die Verwendung von Umbilikalgefäßen an.

Es muß jedoch erwähnt werden, daß Berichte vorliegen, die eine uneingeschränkte Verwendung von Nabelschnurgefäßen limitieren.

Hertig (37) weist darauf hin, daß Syphilis und Toxoplasmose nur einige der Infektionskrankheiten sind, welche auch die Umbilikalgefäße schädigen können. Dürste (23) konnte 1976 zeigen, daß zelluläre Infiltrationen in 13 % der von ihm untersuchten Umbilikalvenen und in 8 % der untersuchten Umbilikalarterien insbesondere dann auftreten, wenn die gravide Frau unter einer EPH-Gestose leidet oder wenn die Zeitspanne vom Einreißen bis zum Ausstoßen der Plazenta 3 Stunden übersteigt. Der Autor führt diese zelligen Infiltrationen der Gefäßwände eher auf Hypoxie und Chemotaxis, hervorgerufen durch Zunahme des Säuregrades der Amnionflüssigkeit als auf bakterielle Infektionen zurück. Es besteht immerhin die Möglichkeit, daß diese Infiltrate eine Immunreaktion auszulösen imstande sind.

In diesem Sinne sind auch die Befunde von Navarro (55) zu werten, der 1977 eine chronische Funisitis als Ergebnis intrauteriner viraler Infektion beschreibt. Der Autor berichtet über eine Nekrose der Media mit sekundärer Verkalkung und Vireneinschlüsse.

Auch über das Vorkommen von Granulationsgewebe im Nabelstrang wird berichtet (29). Schließlich sind noch die Ergebnisse von Asmussen et al. (2) zu erwähnen, welche fanden, daß Unterschiede hinsichtlich der Ultrastruktur der Umbilikalarterien bei rauchenden und nichtrauchenden Müttern bestehen. In elektronenoptischen Untersuchungen konnten degenerative Endothel-Veränderungen wie 'swelling, blebbing, contraction' und subendotheliale Ödembildung festgestellt werden.

Die vorliegenden Berichte dürften die Forderung einer strengen Auswahl von Umbilikalgefäßen zu Transplantationszwecken rechtfertigen.

4.2 Immunologie - Versuch einer Erklärung

Noch ausgeprägter als es sonst bei biologisch-medizinischen Studien der Fall ist, sind manche Ergebnisse widersprüchlich oder schwer zu interpretieren (50).

Es wird im folgenden, ausgehend von den experimentell gefundenen Ergebnissen ein Erklärungsversuch unternommen, ohne auf differente Ergebnisse einiger Autoren (5, 47, 54, 42, 62, 63) einzugehen. Die jeweils derart unterschiedlich angewandten Methoden und Materialien lassen eine vergleichende Diskussion nicht zu.

Moraes und Stasny (52) betonen, daß die Produkte einiger HLA-Loci nicht gleichmäßig auf allen Zellen dargestellt werden, und Seigler und Metzgar demonstrieren, daß auf dem gesamten Syncytiotrophoblasten keine HLA-Antigene gefunden werden konnten, der Zytotrophoblast jedoch solche besitzt (60). Auch der Nachweis von Blutgruppen A- und B-Antigenen auf den Chorionzotten mittels Immunoferritintechnik gelang nicht (34).

Goodfellow et al. (31) fanden in dem von ihnen untersuchten Material, daß keine Ia-Antigene, jedoch HLA-A-Antigene und HLA-B-Antigene auf der

Plazenta nachweisbar waren; allerdings soll deren Antigenität nur etwa 5 % im Vergleich zu der Antigenität von Milzzellen betragen.

Henriksen et al. zeigten (35), daß die fibroblastoiden Zellen des Nabelstranges allogenetische Lymphozyten zu stimulieren nicht in der Lage sind. Dies steht in Einklang mit den Ergebnissen von Hirschberg et al., die 1975 anhand von Fibroblastenkulturen zu den gleichen Resultaten gelangten (38). Wie Lippmann schon 1968 zeigen konnte, ist eine Akzeptierung eines homologen Transplantates durch den Empfänger möglich, wenn die Oberflächenantigene zuvor durch saure Mukopolysaccharide blockiert werden (45). Billingham (6) weist darauf hin, daß alleine eine kurzfristige Aufbewahrung in vitro in der Lage ist, die Überlebenszeit von allogenen Hauttransplantaten zu verlängern, was von Lafferty und Talmage (43) auf eine Degeneration sämtlicher Blutzellen, insbesondere aber vorhandener 'Passenger-Leukozyten' zurückgeführt wird. Auch Simmons et al. berichten, daß das eigenartige Verhalten des Syncytiotrophoblasten nicht auf dem Vorhandensein einer 'antigenen Barriere' beruht, sondern Ausdruck eines 'relativen Defizits' an Antigenen ist (63).

Betrachtet man den biologischen Hintergrund der gefundenen Ergebnisse, so gelangt man zu folgenden Aussagen:

- (1) Das Syncytiotrophoblastengewebe an der Grenzfläche zwischen maternalem und embryonalem Kreislauf darf keine Antigene präsentieren, um das Immunsystem der Mutter nicht zu aktivieren.
- (2) Der Zytotrophoblast besitzt anfangs keine Antigene, muß diese aber durch das in ihm genetisch codierte Immunsystem entwickeln, um post partum zwischen 'Selbst' und 'Nicht-Selbst' entscheiden - somit überleben zu können.
- (3) Die Nabelschnur, welche die Verbindung zwischen Syncytiotrophoblast und Zytotrophoblast darstellt, braucht (im biologischen Sinn) weder Antigene zu präsentieren noch solche zu verdecken; sie ist lediglich ein zeitlich und funktionell streng limitiertes Bindeglied.

In dem speziellen Fall der Transplantation von humanem Nabelschnurgewebe in xenologe Empfänger sind folgende, zum Teil bereits erwähnte Befunde von Bedeutung; sie stehen in Einklang mit den experi-

mentell gefundenen Ergebnissen:

- (1) Die Umbilikalgefäße sind von sauren Mukopolysacchariden umgeben (Wharton'sche Sulze). Wie Lippmann (45) demonstrieren konnte, sind eben- solche in der Lage, Antigendeterminanten zu besetzen. Buddecke (80) weist darauf hin, daß fast alle Bindegewebe ein charakteristisches Mukopolysaccharid-Verteilungsmuster besitzen, welches allerdings altersabhängigen Schwan- kungen unterliegt. Schneider (58) vermutet, daß eventuell die stark negativ geladene Ober- fläche der Mukopolysaccharide in der Lage ist, maternale Lymphozyten abzustößen. Es sei er- wähnt, daß bei den Tierversuchen stets eine umgebende Schicht saurer Mukopolysaccharide verblieb.
- (2) Die in der Wharton'schen Sulze vorhandenen Fibrozyten können keine allogenetischen Lymphozyten stimulieren (35).
- (3) Venen- und Arteriangewebe stellt im Vergleich zu anderen Geweben eine nur schwach antigen wirkende Struktur dar (3, 7, 21, 51). Dies mag zum einen auf der Möglichkeit beruhen, daß sog. 'Passenger-Leukozyten' sehr leicht eliminiert werden können (43), zum anderen

wird darauf hingewiesen (25), daß Zellen mit einem ausgeprägten endoplasmatischen Reticulum in der Regel nur wenige Transplantationsantigene aufweisen. Dies steht wiederum in Einklang mit den elektronenoptischen Befunden von Elgjo et al. (24).

- (4) Das Gefrieren und Auftauen vermindert zusätzlich die Antigenität des Transplantates (66).
- (5) Moraes und Stasny (52) beschreiben 1977 ein neues Endothelzell-Antigen (E-Antigen). Es sei darauf hingewiesen, daß das Endothel allein durch den Gefrier- und Auftauprozess (30), aber spätestens durch die Manipulationen beim 'Splinten' des Gefäßsteiles beseitigt wurde (3, 7).

Die erwähnten Fakten vermögen zwar das gute Einheilen und das Fehlen von Abstoßungsreaktionen der als Xenotransplantate verwendeten Umbilikalgefäße hinlänglich zu erklären; für die Regeneration und den Umbau des transplantierten Gewebes (Einwachsen von Urothel, Einsprossen von Gefäßbindegewebe) ist zur Zeit eine Erklärung nicht möglich, außer der Annahme, daß ein derart ontogenetisch junges und undifferenziertes Gewebe - wie bereits erwähnt - eine für die Regeneration besonders prädisponierte Struktur darstellt.

5. Zusammenfassung

An Hand von Tierversuchen im xenologen System (Mensch - Hund, Mensch - Kaninchen) konnte die Eignung der humanen Umbilikalgefäße als Ureterersatz demonstriert werden.

Mißerfolge werden der operativen Technik, insbesondere der Inkongruenz zwischen Tierureteren, Ureterschienen sowie Umbilikalgefäßen angelastet.

Histologisch konnten keine Anzeichen einer Abstoßungsreaktion gegen die Transplantate verifiziert werden. Es wurde die Regeneration des Urothels sowie des Gefäßbindegewebes in das Transplantat beobachtet.

In einem immunologischen Testsystem (Mäuse; BALB/c ./ . CBA/J) konnte die geringe Antigenität des Nabelschnurgewebes gegenüber allogenen Hauttransplantaten und Milzzellen gezeigt werden, wobei keine signifikanten Unterschiede zwischen jeweils modifiziert vorbehandelten Nabelschnüren bestanden.

Es wird angenommen, daß die Erfolge auf einem günstigen Zusammenwirken verschiedener Faktoren beruhen.

6. Literaturverzeichnis

- (1) Albers, D. D., Pirasthefar, K.:
Comparison of results of ureteroanastomosis
including or excluding the urothelium.
J. Urol. 96, 685, 1966
- (2) Asmussen, I., Kjeldsen, K.:
Intimal ultrastructure of human umbilical arteries.
Observations on arteries from newborn children of
smoking and nonsmoking mothers.
Circ. Res. 36, 579, 1975
- (3) Baier, R. E., Akers, C. K., Perlmutter, R. S.,
Dardik, H., Dardik, I., Wodka, M.:
Processed human umbilical cord veins for vascular
reconstructive surgery.
Trans. Amer. Soc. Artif. Int. Organs 22, 514, 1976
- (4) Bargmann, W.:
Histologie und mikroskopische Anatomie des Menschen.
Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1964
- (5) Beer, A. E., Billingham, R. E., Yang, S. L.:
Further evidence concerning the autoantigenic status
of the trophoblast.
J. Exper. Med. 135, 1177, 1972
- (6) Billingham, R. E.:
The feasibility of altering the immunogenicity of
grafts.
J. Invest. Dermatol. 67, 149, 1976
- (7) Breitenecker, G., Eichelster, P., Staudacher, M.,
Weissenhofer, W.:
Die lyophilisierte Vene als Gefäßprothese.
Thoraxchirurgie 20, 169, 1972
- (8) Buddecke, E.:
Chemie und Stoffwechsel des Venengewebes.
Therapiewoche 26, 5088, 1976
- (9) Carpentier, A.:
The concept of bioprosthesis.
Thoraxchirurgie 19, 379, 1971
- (10) Cabe Mc, M., Cunningham, G. J., Wyatt, A. P.,
Rothnie, N. G., Taylor, G. W.:
A histological and histochemical examination of the
autogenous vein graft.
Brit. J. Surg. 54, 147, 1967

- (11) Callum Mc, W. D.:
Thermodilution measurements of human umbilical
cord flow at delivery.
Amer. J. Obstet. Gynecol. 127, 491, 1977
- (12) Chasnoff, I., Fletcher, M.:
True knot of the umbilical cord.
Amer. J. Obstet. Gynecol. 127, 425, 1977
- (13) Clara, M.:
Entwicklungsgeschichte des Menschen.
Quelle & Meyer Verlag, Heidelberg 1967
- (14) Dardik, H., Dardik, I.:
Vascular heterograft: human umbilical cord vein
as an aortic substitute in Baboon - a preliminary
report.
J. med. Primatol. 2, 296, 1973
- (15) Dardik, H., Ibrahim, M. I., Dardik, I.:
Modified and unmodified umbilical vein allografts
and xenografts as arterial substitutes : morpholo-
gic assessment.
Surg. Forum 25, 286, 1975
- (16) Dardik, H., Dardik, I., Sprayregen, S.,
Ibrahim, M. I., Veith, F.:
Small vessel reconstructive surgery of the lower
extremities.
Angiology 26, 683, 1975
- (17) Dardik, I., Dardik, H.:
The fate of human umbilical cord vessels used as
interposition grafts in the baboon.
Surg. Gyn. Obstet. 140, 567, 1975
- (18) Dardik, I., Ibrahim, M. I., Dardik, H.:
Femoral popliteal bypass employing modified umbilical
cord vein: an assessment of early clinical results.
Cardiovasc. Diseases 3, 314, 1976
- (19) Dardik, H., Ibrahim, M. I., Sprayregen, S., Dardik, I.:
Revascularization of the peroneal artery.
Surg. Gyn. Obstet. 143, 946, 1976
- (20) Dardik, H., Dardik, I.:
Successful substitution with modified human umbilical
vein.
Ann. Surg. 111, 60, 1976
- (21) Dardik, H., Ibrahim, M. I., Baier, R.,
Sprayregen, S., Levy, M., Dardik, I.:
Human umbilical cord - a new source for vascular
prosthesis.
JAMA 236, 2859, 1976

- (22) Dardik, H., Ibrahim, M. I., Dardik, I.:
Arteriovenous fistulas constructed with modified
human umbilical cord vein graft.
Arch. Surg. 111, 60, 1976
- (23) Dürste, P.:
Häufigkeit der zelligen Infiltration in Eihäuten
und Nabelschnur sowie deren Abhängigkeit vom Zeit-
punkt des Blasensprunges, von der Übertragung und
EPH-Gestose.
Zentralbl. Gynäkol. 98, 1103, 1976
- (24) Elgjo, R. F., Henriksen, T., Evensen, S. A.:
Ultrastructural identification of umbilical cord
vein endothelium in situ and in culture.
Cell Tiss. Res. 162, 49, 1975
- (25) Floersheim, G. L.:
Transplantationsbiologie.
Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York 1971
- (26) Friedlaender, G. E.:
The antigenicity of preserved allografts.
Transplant. Proceed. 8, 49, 1975
- (27) Friedman, S. A., Cerrutti, M. M., Amadeo, B.:
Spontaneous necrosis of a functioning saphenous
vein graft.
Surgery 66, 1022, 1969
- (28) Gänshirt, H.:
Bau und Funktion menschlicher Nabelschnurarterien.
Morph. Jahrb. 58, 1944
- (29) Gille, J.:
Granulation tissue in the umbilical cord.
J. Reprod. Med. 18, 35, 1977
- (30) Gloster, E., Stemerman, M., Spaet, T.:
Platelet interaction with human umbilical cord
vascular basement membrane.
Blood vessels 13, 267, 1976
- (31) Goodfellow, P., Barnstable, C., Bodmer, W.,
Snary, D., Crumpton, M.:
Expression of HLA antigens on placenta.
Transplantation 22, 595, 1976
- (32) Goerttler, K.:
Lehrbuch der Histologie und der mikroskopischen
Anatomie des Menschen.
Gustav Fischer Verlag, Stuttgart 1963

- (33) Goerttler, K.:
Die Bedeutung der funktionellen Struktur der
Gefäßwand, I. Untersuchungen an der Nabelschnur-
arterie des Menschen.
Morph. Jahrb. 91, 1951, zit. n. (4)
- (34) Goto, S., Hoshino, M., Tomoda, Y., Ishizuka, N.:
Immunoelectron microscopy of the human chorionic
villus in search of blood group a and b antigens.
Laborat. Invest. 35, 530, 1976
- (35) Henriksen, T., Evensen, S., Elgjo, R., Vefling, A.:
Human endothelial cells in culture.
Scand. J. Haematol. 14, 233, 1975
- (36) Herrath, von E.:
Atlas der Zytologie, Histologie und mikroskopischen
Anatomie des Menschen.
Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1972
- (37) Hertig, A. T.:
Pathological aspects. In: Villee, C. A. (Ed.):
The placenta and the fetal membranes.
Williams and Wilkins, New York 1960
- (38) Hirschberg, H., Evensen, S., Henriksen, T.,
Thorsby, E.:
Stimulation of human lymphocytes by allogeneic
endothelial cells in vitro.
Tissue Antigens 4, 257, 1974
- (39) Im, H. M., Simmons, R. L.:
Mechanisms for the prolonged survival of glutaraldehyd
treated skin allografts.
Transplantation 14, 527, 1972
- (40) Jaffe, E. A., Minick, C. R., Adelman, B., Becker,
G. G., Nachman, R.:
Synthesis of basement membrane collagen by cultured
human endothelial cells.
J. Exp. Med. 144, 209, 1976
- (41) Klein, J.:
An attempt at an interpretation of the mouse H-2-
complex. In: Weigle, W. O. (Ed.): Contemporary topics
in immunobiology.
New York, London: Plenum Press Vol. 5, 1976
- (42) Kanazawa, K.:
Preliminary studies on antigenicity of human
trophoblasts by mixed-leucocyte-trophoblast-culture
(MLTC) in vitro
Acta Obstet. Gynecol. Jap. 20, 79, 1973

- (43) Lafferty, K. J., Talmage, D. W.:
Theory of allogeneic reactivity and its relevance
to transplantation biology.
Transplant. Proceed. 8, 349, 1976
- (44) Laszt, L.:
Die Biochemie und Pharmakologie der Venenwand.
Therapiewoche 26, 5085, 1976
- (45) Lippmann, M.:
Transplantation and cytotoxicity changes induced
by acid mucopolysaccharides.
Nature 219, 33, 1968
- (46) Lenhard, V.:
Organtransplantation. In: Vorlaender, K. O. (Ed.):
Praxis der Immunologie.
Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1976
- (47) Loke, Y. W., Joysey, V. C., Borland, R.:
HLA-Antigens on human trophoblast cell.
Nature 232, 403, 1971
- (48) Malpas, P., Simonds, E. M.:
Arterial and venous pressures in the human umbilical
cord.
Amer. J. Obstet. Gynecol. 98, 201, 1967
- (49) Margolis, A. J., Orcutt, R. E.:
Pressures in human umbilical cord vessels in utero.
Amer. J. Obstet. Gynecol. 80, 573, 1967
- (50) Maroni, E.:
Der Fetus als Transplantat. In: Schneider, J.,
Weitzel, H. (Eds.): Prophylaxe der Rhesus-
Sensibilisierung.
Medizinische Verlagsanstalt, Marburg 1974
- (51) Mindich, B. P., Silverman, M. J., Elguezabal, A.,
Levowitz, B. S.:
Umbilical cord vein fistula for vascular access in
hemodialysis
Trans. Amer. Soc. Artif. Int. Organs 22, 273, 1975
- (52) Moraes, J. R., Stasny, P.:
A new antigen system expressed in human endothelial
cells.
J. Clin. Invest. 60, 449, 1977
- (53) Ortmann, R.:
Grundriß der Entwicklungsgeschichte des Menschen.
Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York 1970

- (54) Nista, A., Sezzi, M. L., Bellelli, L.:
Pregnancy rejection induced by neuraminidase-
treated placental cells.
Oncology 28, 402, 1973
- (55) Navarro, G., Blanc, W. A.:
Chronic viral funisitis.
J. Pediatr. 91, 967, 1977
- (56) Pollard, S. M., Aye, N. N., Simonds, E. M.:
Scanning electron microscope appearances of
normal human amnion and umbilical cord at term.
Brit. J. Obstet. Gynecol. 83, 470, 1976
- (57) Reilly, R. D., Russell, P. T.:
Neurohistochemical evidence supporting an absence
of adrenergic and cholinergic innervation in the
human placenta and umbilical cord.
Anat. Rec. 188, 277, 1977
- (58) Schneider, J.:
Genitalorgane (Sterilität und Schwangerschaft).
In: Vorlaender, K. P. (Ed.): Praxis der Immunologie.
Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1976
- (59) Schwartz, S. I., Kutner, F. R., Neistadt, A.,
Barner, H., Resnicoff, S., Vaughan, J.:
Antigenicity of homografted veins.
Surgery 61, 471, 1967
- (60) Seigler, H. F., Metzgar, R. S.:
Embryonic development of human transplantation
antigens.
Transplantation 9, 478, 1970
- (61) Seybold-Epting, W., Gall, F. P.:
Zweiteingriffe nach femoro-poplitealer Venentrans-
plantation.
Thoraxchirurgie 22, 496, 1974
- (62) Simmons, R. L., Russell, P. S.:
The antigenicity of mouse trophoblast.
Ann. New York Acad. Scienc. 99, 717, 1962
- (63) Simmons, R. L., Russell, P. S.:
Xenogeneic antigens in mouse trophoblasts.
Transplantation 5, 85, 1967
- (64) Sholley, M. M., Gimbrone, M. A., Cotran, R. S.:
Cellular migration and replication in endothelial
regeneration: a study using irradiated endothelial
cultures.
Lab. Invest. 36, 18, 1977

- (65) Szilagyi, D. E., Elliott, J. P., Hageman, J. H.,
Smith, R. F., Dall'olmo, C. A.:
Biologic fate of autogenous vein implants as
arterial substitutes: clinical, angiographic and
histopathologic observations in femoro-popliteal
operations for atherosclerosis.
Ann. Surg. 178, 232, 1973
- (66) Tice, D. A., Zerbino, V.:
Clinical experience with preserved human allografts
for vascular reconstruction.
Surgery 72, 260, 1972
- (67) Tischendorf, D.:
Nabelschnurkomplikationen als Ursache für den
intrauterinen Fruchttod.
Zentralbl. Gynäkol. 99, 234, 1977
- (68) Vickery, C. M., MacCombs, H. L., Warren, R.:
Experimental small-artery grafts in dogs treated
with immunosuppressive drugs.
New England J. Med. 272, 325, 1965 zit. n. (59)
- (69) Villee, C. A.:
Proceedings of the conference. In: Villee, C. A.
(Ed.): The placenta and the fetal membranes.
Williams & Wilkins, New York 1960
- (70) Virgilio, L. A., Spangler, P. B.:
Fetal death secondary to constriction and torsion
of the umbilical cord.
Arch. Pathol. Lab. Med. 102, 32, 1978
- (71) Wagner, H., Götze, D., Ptschelinzew, L.,
Röllinghoff, M.:
Induction of cytotoxic T lymphocytes against I-
region-coded determinants: in vitro evidence for
a third histocompatibility locus in the mouse.
J. Exper. Med. 142, 1477, 1975
- (72) Wagner, H., Trostmann, H., Pfizenmaier, K.,
Röllinghoff, M.:
The cytotoxic activity of mouse T lymphocytes
against allogeneic T cells.
Z. Immun. Forsch. 150, 81, 1975
- (73) Watzka, M.:
Kurzlehrbruch der Histologie und mikroskopischen
Anatomie des Menschen.
F. K. Schattauer Verlag, Stuttgart & New York 1969

- (74) Weber, T. R., Lindenauer, S. M., Dent, T. L., Allen, E., Salles, G. A., Weatherbee, L.:
Long-term patency of vein grafts preserved in liquid nitrogen in dimethyl sulfoxide.
Ann. Surg. 184, 709, 1976
- (75) Wunderlich, M., Sandig, T.:
Persistenz der Vena umbilicalis dextra - eine seltene Gefäßanomalie der Nabelschnur.
Zentralbl. Gynäkol. 99, 891, 1977
- (76) Wyatt, A. P., Rothnie, N. G., Taylor, G. W.:
The vascularization of vein grafts.
Brit. J. Surg. 51, 378, 1964
- (77) Wylie, E. J.:
Vascular replacement with arterial autografts.
Surgery 57, 14, 1965
- (78) Weber, W.:
Tierexperimentelle Untersuchungen über Mißerfolge der Arterienalloplastik.
Langenbeck's Arch. klin. Chir. 313, 847, 1965
- (79) Ellison, J. P.:
The nerves of the umbilical cord in man and the rat.
Amer. J. Anat. 132, 53, 1971
- (80) Buddecke, E.:
Grundriß der Biochemie.
Walter de Gruyter Verlag, Berlin & New York 1974
- (81) Old, L. J., Boyse, E. A., Bennett, B., Lilly, F.:
Peritoneal cells as an immune population in transplantation studies. In: Amos, B., Koprowski, H. (Eds.): Cell bound antibodies.
Conf. Nation. Acad. Scienc., Wistar Institute Press, Philadelphia 1963

Danksagung

Mein besonderer Dank für die Überlassung des
Themas gilt Herrn Prof. Dr. Rudolf Hohenfellner.

Ebenso danke ich Herrn Prof. Dr. P. Klein für
die Bereitstellung eines Arbeitsplatzes sowie
den Professoren Dr. Röllinghoff und Dr. Wagner
für ihre Unterstützung und Beratungen.

Für die technische Assistenz bei den immunolo-
gischen Versuchen sei an dieser Stelle Frau
Angelika Götz herzlich gedankt.

7.

Lebenslauf

Ich, Rainer Hans-Joachim Groß, wurde am 5. Januar 1953 in Ludwigshafen am Rhein als Sohn des Zahnarztes Willi Groß und dessen Frau Paula, geb. Kirsch, geboren.

Ich besuchte in den Jahren 1960 bis 1964 die Volksschule und anschließend bis 1972 das Staatliche Carl-Bosch-Gymnasium, wo ich am 19.05.1972 die Reifeprüfung ablegte. Das Studium der Zahnheilkunde begann ich im Wintersemester 1972/1973. Hier legte ich am 19.09.1973 die naturwissenschaftliche Vorprüfung und am 18.03.1974 die zahnärztliche Vorprüfung ab. Die zahnärztliche Prüfung legte ich ebenfalls in Mainz am 17.02.1978 ab.

Seit dem 17.09.1976 bin ich mit Inge Groß, geb. Finzer, Zahnarzthelferin, verheiratet. Unsere Tochter Nicole wurde am 19.12.1978 geboren.

Ich erhielt meine Bestallung als Zahnarzt am 22.02.1978 und bin seither in der väterlichen Praxis als Assistenz Zahnarzt tätig.

Rainer H.-J. Groß

In den Pfützen 3

6701 Schauernheim

